



TITLE:

同種皮膚移植とリンパ球反応に関する研究 1.同種皮膚移植と所属リンパ節の細胞反応およびそれに及ぼす6-Mercaptopurineの影響

AUTHOR(S):

池田, 幸策

CITATION:

池田, 幸策. 同種皮膚移植とリンパ球反応に関する研究 1.同種皮膚移植と所属リンパ節の細胞反応およびそれに及ぼす6-Mercaptopurineの影響. 日本外科宝函 1970, 39(1-2): 19-37

ISSUE DATE:

1970-03-15

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/207872>

RIGHT:

同種皮膚移植とリンパ球反応に関する研究

1. 同種皮膚移植と所属リンパ節の細胞反応およびそれに及ぼす 6-Mercaptopurine の影響

山口大学医学部第1解剖学教室（指導：栗屋和彦教授）

池 田 幸 策*

〔原稿受付：昭和45年3月3日〕

Studies on Lymphocyte Reaction in Skin Allograft

1. Cellular Response in Regional Lymph Node in Skin Allograft and Its Alteration by 6-Mercaptopurine

KOSAKU IKEDA

1st Department of Anatomy, Yamguchi University School of Medicine

(Director : Prof. Dr. KAZUHIKO AWAYA)

The present paper is concerned with the role of lymphocytes in skin allograft rejection. Animals used were 2-month-old male mice of Strong A and Db strain. They were highly inbred but genetically unrelated. Circular full thickness skin graft, about 1.5 cm in diameter, were excised from the left side of the animal's back and exchanged orthotopically between mice of the two strains. Grafts were fixed to the host's skin with silk sutures. No dressing were applied. The allografts were inspected and palpated daily. The day when hemorrhage, cyanosis, petechia, induration etc. were observed in the graft was taken as the initial time of the rejection and the day when only atrophic scar tissue was left at the transplantation site was recorded as the end time of the rejection. Some of host mice were injected intraperitoneally with 6-mercaptopurine of 10 mg per kg per day from the date of skin allografting till complete breakdown of the graft.

1. Skin allograft group : The survival times are shown in Table 1. The mean time of the onset of rejection was 9.2 ± 0.65 days in Db strain mice and 7.8 ± 0.43 days in Strong A strain mice. The regional lymph node (the left superficial axillary node) gradually increased in its weight from the 3rd to 10th day after skin allograft. The characteristic histologic

* 現所属：山口大学医学部 第1外科学教室（主任：八牧力雄教授）

change in the node was an enlargement of the paracortical area associated with the proliferation of the "large immature lymphocytes" (Photos. 1-5). Foci of these cells appeared within 3 days after grafting and their numbers increased up to the 10th day before declining. These changes were reflected in the imprints of the node : The occurrence of these cells rose from the baseline figure of 0.8% to 2.5% in Db strain mice, and from that of 0.4% to 2.6% in Strong A mice (Fig. 1, Tables 4 and 5, Photo. 6). Thus, the proliferation of the large immature lymphocytes in the regional lymph node was closely associated with the onset of skin allograft rejection.

2. Skin allograft and 6-MP injection group : By the 6-MP administration the allograft survival time was significantly prolonged (Table 8). In this group, till the 10th day after skin allograft an increase of weight of the regional lymph node (Table 9) and a slight enlargement of the cortex were observed. However, on the 14th day an atrophy of the node occurred and all types of lymphocytes were greatly depleted (Photo. 7). A most striking feature was a reduction in number of the large immature lymphocytes in this node (Table 10, Photo. 8). This suggests that the suppression of growth of these cells by this agent may induce the prolongation of skin allograft survival.

These findings suggest that the large immature lymphocytes play an important role in the mechanism of skin allograft rejection. In the skin allograft, the proliferation of these cells is presumably induced by interaction of allograft antigen with the "immunocompetent" small lymphocytes which are present in the host mice. These cells, thus developed, divide and probably give rise to new immunoperforming small lymphocytes which can demolish a skin graft by migrating directly into it. Main effect of the 6-MP is presumably to inhibit the transformation of immunocompetent small lymphocytes into large immature lymphocytes as immunological effectors. Further work is in progress on the early cytochemical and morphological changes in lymphocytes in the regional lymph nodes after skin allograft and will be reported at a later date.

同種移植免疫においては血清抗体因子よりも細胞性因子の作用が重要であるとされている。これは皮膚の同種移植を受けたマウスの抗血清の受身的移入 (passive transfer) によって移植片の脱落は促進されないことを示した Billingham ら (1954)¹⁾ の初期の実験や、同種腫瘍を接種されたマウスの所属リンパ節細胞の受身的移入によって移植腫瘍の増殖がうまく抑制されることを示した Mitchison (1955)²⁾ の実験などが、大すじにおいて今日なお支持されているためである。Billingham らはその後も同種血清抗体の細胞障害作用は移植皮膚片に及び難いことをくりかえし

主張している^{3,4,5,6,7)}。これには異論もあって、たとえば Stetson⁸⁾ のように、すべてを血清抗体の作用として説明する学者もある。しかし、今日では同種移植免疫系において細胞因子がうまく関与していることを否定する学者は少い。このような細胞因子の最初に働く場としては主として移植局所とその所属リンパ節が考えられる。したがって、細胞因子の検索にあたってはまず移植後の所属リンパ節にどのような反応がおこっているかを調べる必要がある。皮膚の同種移植実験はこの目的のためによく用いられる。Scothorne と McGregor (1955, 1956,^{9,10)} や André

ら(1962, 1964)^{11,12,13)}の家兎での報告にみられるように、皮膚移植後、所属リンパにおいてもっとも目立つ反応は塩基好性のつよい大型リンパ球が著明に増殖することである。彼らはこれを large lymphoid cells⁹⁾ または hemocytoblasts¹¹⁾ とよび、この細胞の増殖が移植皮膚片の脱落に主役を演じていることを報告している。そして、この細胞の増殖は cortisone¹⁰⁾ または 6-Mercaptopurine (以下6-MPと略記)¹²⁾ によって抑制され、それとともに移植片の脱落も或る程度おさえられることを観察した。われわれもかつて近交系マウスを用いて類似の実験を行ない、同種皮膚移植におけるこのような大型幼若リンパ球の役割の重要性を強調しておいた (1965)¹⁴⁾。

一方、リンパ球の免疫細胞としての役割については、ここ数年の間にいくつかの新知見が加えられてきた^{15,16,17)}。われわれの成績もこれらの知見をもとにして再検討してみることが必要になってきた。そこで著者はその後さらに実験を追加して、皮膚移植におけるリンパ球反応を詳細に検討した。ここではマウスの同種皮膚移植後の生着期間、宿主リンパ節の反応、およびそれらに及ぼす6-MP投与の影響などについて述べる。これらの所見からリンパ球と細胞免疫との深いつながりが示されるであろう。

I. マウスの皮膚移植手技とその考察

小動物の皮膚移植の手技に関しては Billingham と Medawar (1951)¹⁸⁾、Billingham (1961)¹⁹⁾ の詳細な記載があり、わが国でも佐藤ら (1958)²⁰⁾、藤井と鈴木 (1966)²¹⁾ らの報告がみられる。われわれのマウスの皮膚移植の手技もこれらの記述を参考にして行なった。ここではその概略について述べ、移植片の生着期間に関して安定した成績を得るためにわれわれが手技上とくに留意した事項をあけておきたい。

前処理 一般には脱毛は脱毛クリームを用いて行なわれているが、必ずしもその必要はない。われわれは移植片の採取部位と移植床の予定部位をそれよりも広範囲にわたって、よくきれるハサミでていねいに、できるだけ短く毛をつみとることにしている。そのあと、この部位をマージニン液でよく消毒する。麻酔には後述のように、Nembutal (Pentobarbital sodium 溶液) の注射を用い、補足的にエーテル麻酔も行なった。

移植片のつくり方 Billingham ら^{18,19)} は皮膚の移植片を pinch graft と split-thickness graft とに

わけている。前者は有鉤の小ピンセットで採取予定部位の皮膚を小さく円錐状につまみ上げ、これを外科用メスまたはハサミで一気にかきとってつくる。この方法はいわば“つみとり法”ともいうべきもので、これによって円形または卵円形の小皮膚片が得られる。このさい、ピンセットでつまみ上げる高さを加減することによっていろいろの大きさ (直径3～15mm) の皮膚片をつくることができる。マウスでは真皮と皮下組織との結合がかなり強固なので、この方法によると、移植片には表皮、真皮のほかに皮下組織の脂肪層 (panniculus adiposus) と筋肉層 (panniculus carnosus) が一緒についてくるのが普通である。移植の結果をよくするためには移植片からできるだけこれらの層をとり除いておくことが必要とされている。一方、後者はうすい刃のメスで表皮と真皮の一部を皮下組織のつかないように下層からうすくそぎとるようにしてつくる。このようないわば“そぎとり法”とでもいうべき方法でつくられた移植片は前者よりもうすい。これはこの方法の報告者 Karl Thiersch (1822-1895, ドイツの外科医) の名にちなんで、Thiersch graft とよばれることもある。この方法は技術的にやや時間がかかる。本実験ではこれは用いなかった。

ここでは、ほぼ前者の“つみとり法”(pinch graft) の原則に従って移植片を採取した。すなわち、左肩甲骨下角から下方約2cmの部の皮膚をピンセットで小さくつまみ上げ、鋭い安全カミソリの刃で一気にかきとり、直径約15mmの円形の皮膚片をつくった。本実験では同種のマウスの間で皮膚片の交換移植を行なったので、移植片の大きさは相手の移植床とほぼ同じ大きさにする必要がある。移植片に付着している皮下組織要素はできるだけいねいにとり除き、移植まで冷たい生理食塩水のなかに保存しておいた。

移植床のつくり方 Billingham¹⁹⁾ によれば移植床の部位は胸郭の背部または側部がもっともよいという。この部は肋骨と脊柱があって、皮膚移植片に対する強固な支えになるし、繃帯などもし易い利点がある。とくに、胸背部はマウスが自らの前・後肢でひっかいたり、口でかみきったりすることができない。さらに、これらの部位は動脈性支配も豊富であり、静脈やリンパ管は腋窩に流れこんでいる。このことは創傷の治癒に好都合であり、所属リンパ節の反応をみるにも適している。移植床のつくり方は原則として前述の移植片のとり方と同様である。Billingham をはじめ多くの研究者は移植床をつくるさいに皮下組織要素

(panniculus adiposus et carnosus)を損傷しないことがとくに重要であることを強調している。

われわれの場合には、移植片の採取部位をそのまま移植床として用いたので、これらの層の損傷は或る程度避けることができない。そのため、移植片の採取時に皮下の血管損傷はつとめて避けるようにした。わずかな出血に対しても止血を充分に行ない、滅菌ガーゼで軽く圧迫して組織液を除いたのち移植床とした。

移植片のうえこみ これには完全適合法(fitted graft)と部分適合法(open fit graft)がある^{18,19)}。前者は移植片と同じ大きさの移植床をつくり、これに移植する方法であり、後者は移植片よりもさらに大きな移植床をつくってここに移植する方法である。後者は動物に対する侵襲も大きく、感染の機会も多くなるのであまり良い方法とはいえない。ただ、移植片の周囲からの表皮の増殖の様子を肉眼で観察するには好都合であるという。実験の目的にもよるが、マウスでは完全適合法によることが多い。われわれもこれを用いた。すなわち、移植片を移植床の上に置き、細い絹糸によって両者の皮膚縁を縫合し適合させた。多くの研究者は移植部位をガーゼなどで被覆したのち縫合を行っているが、その必要はないようである。術後、縫合部位にマーカークロムの塗布をするだけで感染などはみられず、良好な成績が得られる。

皮膚の生着を妨げる手技上の二つの因子 これにはとくに二つのことが重要である。第一は皮下の脂肪層と筋肉層(panniculus adiposus et carnosus)に対する取扱いである。既述のように、Billingham^{18,19)}や佐藤²⁰⁾は皮膚移植のさいには移植片からあらかじめこれらの層をよくとり除いておくこと、移植床をつくる時にはこれらの層を傷つけないこと、とくにその血管の損傷を避けることが重要であるとして、このような配慮を怠ると皮膚生着の成績が低下することを強調している。第二は移植片と移植床の皮膚の生理的状態についての配慮である。一般にマウスの毛包の発育は一定の周期をもって行なわれ、増殖期(anagen)、退行期(catagen)と休止期(telogen)をくりかえすことが知られている²²⁾。そして、増殖期には皮膚の表皮と皮下脂肪組織も著しく肥厚して休止期の厚さの2~3倍になるとされている。RundallとDushoff(1956),²³⁾ BallantyneとConverse(1957)²⁴⁾によるとこの時期の皮膚を移植片とすることはきわめて不利で、休止期の皮膚を用いた場合に比べて、その生着期間が著しく短縮されるという。これは増殖期

の皮膚は代謝や血行が亢進しているため、移植片が下層から切りはなされた場合に、血行障害などの影響をより多く受けるためと思われる。同様な意味で、このような毛包の増殖期にある肥厚した皮膚の部位を移植床としてえらぶことも避けた方がよいと考えられる。マウスの増殖期の皮膚は白色系では皮膚をつまみ上げてみると、皮膚の血管がすけてみえない(これに対して、休止期のものは血管がすけてみえる)し、有色系では色素が沈着して皮膚そのものが着色しているようにみえるので一目で増殖期ということがわかる。したがって、このような皮膚部位を移植片ないし移植床とすることは比較的容易に避けることができよう。

上述のように、われわれは“つまとり法”(pinch graft)によって皮膚の交換移植を行なった。この方法によると皮下のpanniculus層にまで侵襲が及ぶことは避けられないので、第一の因子に対する配慮はやや欠けるうらみがある。しかし、この方法は手技が簡単で操作に長い時間を要せず、皮膚の交換移植にはきわめて便利である。これは皮膚の生着期間は多少短くなるという欠点を補うに足る長所であり、他の実験条件を一定にしてこの手技を行なえば、生着期間に関してかなり安定した成績を得ることが期待できる。したがって、著者は可能な限り同じ条件と終始一貫した手技とによって皮膚移植を行なうことにつとめた。とくに、上述の第二の因子を重視して、できるだけ休止期にある皮膚をえらび移植を行なうようにした。これが皮膚移植の手技に対するわれわれの方針である。

II. 材料と方法

動物 用いた動物は近交系のDb系とStrong A系、生後2月目、体重20g内外のオスのマウスである。そのほか、予備的または補足的にC₅₇BL, Cb, CF₁系マウスも用いられた。これらはいずれもわれわれの教室で良好な環境において一定の条件のもとに飼育したものである。飼料はオリエンタル製MNF固形飼料を用いた。飲料水は適宜与えた。皮膚移植を受けた宿主マウス総数は160匹であった。

麻酔 主としてNembutal(Pentobarbital sodium 溶液)麻酔が用いられた。その原液を生理食塩水で5倍に稀釈して、これを体重1g当り0.005ml(20gのマウスであれば0.1ml)の割合で腹腔内に注射した。ときには、補足的にエーテル麻酔も行なった。

皮膚移植 上に述べた手技に従って行なった。皮膚片を交換する予定の2匹のマウスの背部皮膚を“つま

とり法”によって小円形（直径約15mmの移植片を切りとり、それぞれの創面をそのまま移植床として用い、ここに移植片を縫合移植した。繃帯による固定は行なわなかった。要点はこのとおりであるが、その実施には種々の注意を払ったことは既述のとおりである。

生着日数の判定 これは肉眼的観察と触診により行なった。観察は毎日つけ、とくに移植片の脱落開始の時期と完全脱落の時期に注意した。われわれは移植局所の浮腫、発赤、点状出血、硬結などの所見を示すときをもって脱落開始の時期とした。そして、移植片が壊死におちいったのち痂皮化して、完全に移植床から脱落した日をもって完全脱落の時期とした。このような判定には主観の入る要素もあるが、細心の注意のもとに観察すればかなり一定の成績を得ることができる。移植後5日以内に脱落開始がみられたものは成績から除外した。このような早期脱落の現象は移植片の損傷とか感染などによるもので、通常の拒否反応の経過とは考えられないからである。

6-MPの投与 6-MPの粉末 100mg を 1N-NaOH の 1ml に溶かしたものをを用いた。注射にはこれをさらに 1ml 中に 10mg の割に生理食塩水でうすめて用いた。これを体重 1kg につき 10mg の割に皮膚移植の当日から毎日 1 回腹腔内に注射した。注射は完全脱落の日までつづけた。なお、ときには、皮膚移植の1週間前から 6-MP を 1 日 10mg/kg の割に連日投与したり、あるいは移植当日に 30mg/kg 注射して、その後 3 日目ごとに 30mg/kg を完全脱落の日まで投与して、連日投与の場合と比較してみた。

細胞・組織学的観察 皮膚移植後 1, 3, 5, 7, 10, 14, および 21 日目に動物を殺して標本をとりだした。観察は主として所属リンパ節である左浅・深腋窩リンパ節について行ったが、そのほか、腸間膜根リンパ節、脾、胸腺および移植局所も調べた。これらは 10%ホルマリンまたは Cornoy 固定後、5~6 μ の切片とし、ヘマトキシリン・エオジン染色をおこなった。リンパ節に対しては、メチルグリン・ピロニン染色も施した。胸腺、リンパ節および脾については重量測定を行ない、その経時的变化を観察した。

一方、所属リンパ節と腸間膜根リンパ節では、その捺印標本をつくり、Wright 染色を施し、細胞学的観察を行なった。細胞 1000 個について鑑別算定を行なった。その分類は表 4, 5, 6, 7 に示すとおりである。このうちリンパ球はその直径に従って 9.0 μ , 9.1~13.0 μ , 13.1 μ 以上の三型にわかれ、13.1 μ 以上の細胞は大型

幼若リンパ球としてとり扱い、本研究ではその出現の変動をとくに重視した。その同定のためにメチルグリン・ピロニン染色も併用された。

なお、皮膚の移植片の生着期間の判定のために完全脱落の日まで生存させたマウスはその日に殺して上述の組織について同様な観察をおこなった。

その他の観察：所属リンパ節の変化は細胞化学的および電子顕微鏡的にも観察された。前者では、リンパ節の塗沫標本をつくり、ファスト・グリン FCF 染色を施したのち、リンパ球のヒストン量を経時的に顕微分光測光法 (MSP) により測定した。また、後者では資料は pH7.4 のペロナール緩衝液で 1% にしたオスミウム酸溶液で固定、アルコール脱水、エボン包埋後薄切したのち観察した。これらの方法と所見の詳細については別に報告の予定である。

Ⅲ. 結 果

1. 皮膚の同種移植片の生着日数と宿主リンパ組織の反応

a) 皮膚の同種移植片の生着日数 (表 1)

Db 系と Strong A 系 マウスにおける皮膚移植片の生着日数は表 1 に示すとおりである。脱落開始の時期は Db 系マウスでは移植後約 9 日目、Strong A 系では約 8 日目；完全脱落の時期はそれぞれ約 19 日目と 17 日目ではほぼ似たような結果が得られた。しかし、どちらかといえば、Strong A 系マウスの方が脱落はやや早い傾向がある。

b) 宿主リンパ組織の重量

宿主が Db 系マウスの場合 (表 2)：皮膚移植後、胸腺、腸間膜根リンパ節および脾の重量は対照の非移植群にくらべて多少の増減はみられるが、著明な変化はみられない。これに対して、所属リンパ節である左浅腋窩リンパ節の重量は 1 日目から増加し、10 日目に最高 (対照の約 2.8 倍) となり、以後漸減する。左深腋窩リンパ節にもやや重量の増加の傾向がみられる。右側の浅・深腋窩リンパ節の重量も対照にくらべてか

Table 1. Survival time of skin allograft in mice. Mean \pm standard error (n = 10).

Strain of donor mice	Strain of host mice	Day of onset of graft rejection	Day of complete rejection of graft
Strong A	Db	9.2 \pm 0.65	19.0 \pm 0.91
Db	Strong A	7.8 \pm 0.43	17.2 \pm 0.96

Table 2. Weight of lymphoid organs in Db-strain mice which were challenged with skin allografts from Strong A-strain mice. Mean \pm standard error (n=6).

Days after grafting	Body weight (gm)	Axillary lymph nodes (mg)				Mesenteric lymph nodes (mg)	Spleen (mg)	Thymus (mg)
		Superficial		Deep				
		Right	Left	Right	Left			
1	18.2 ± 0.60	2.7 ± 0.42	2.6 ± 0.46	3.2 ± 0.69	3.7 ± 0.61	51.1 ± 5.21	81.2 ± 4.15	27.2 ± 3.55
3	20.8 ± 0.36	1.9 ± 0.21	2.4 ± 0.22	3.0 ± 0.36	3.1 ± 0.28	40.1 ± 6.41	116.3 ± 8.81	36.5 ± 3.29
5	21.4 ± 1.16	2.0 ± 0.38	3.1 ± 0.69	2.4 ± 0.41	1.8 ± 0.29	47.1 ±12.16	101.5 ±14.10	27.4 ± 6.22
7	20.3 ± 0.92	2.2 ± 0.35	3.1 ± 0.20	3.2 ± 0.15	2.4 ± 0.29	56.1 ±10.22	88.6 ± 7.53	27.4 ± 3.84
10	21.2 ± 0.79	1.9 ± 0.15	4.7 ± 0.60	3.2 ± 0.35	2.8 ± 0.58	46.3 ± 5.81	106.8 ±15.25	35.4 ± 3.89
14	20.3 ± 0.61	3.0 ± 0.24	3.1 ± 0.39	1.9 ± 0.30	3.8 ± 0.31	38.9 ± 3.45	87.5 ± 9.20	22.5 ± 2.42
17	19.9 ± 0.83	2.4 ± 0.34	3.3 ± 0.49	2.9 ± 0.61	2.6 ± 0.42	27.3 ± 1.92	76.3 ± 6.46	29.0 ± 1.76
21	23.0 ± 1.24	2.6 ± 0.54	2.8 ± 0.29	3.0 ± 0.59	3.0 ± 0.42	36.1 ± 4.37	91.4 ± 7.74	20.9 ± 4.13
control	20.3 ± 1.12	1.5 ± 0.19	1.8 ± 0.29	1.7 ± 0.25	1.8 ± 0.27	51.0 ± 8.40	94.5 ± 9.01	36.1 ± 5.63

Table 3. Weight of lymphoid organs in Strong A-strain mice which were challenged with skin allografts from Db-strain mice. Mean \pm standard error (n = 6).

Days after grafting	Body weight (gm)	Axillary lymph nodes (mg)				Mesenteric lymph nodes (mg)	Spleen (mg)	Thymus (mg)
		Superficial		Deep				
		Right	Left	Right	Left			
1	18.6 ± 1.42	1.9 ± 0.47	2.7 ± 1.06	3.7 ± 1.09	4.1 ± 1.57	36.2 ± 6.97	88.6 ± 13.08	21.6 ± 3.5
3	22.8 ± 0.97	2.6 ± 0.43	4.5 ± 0.54	3.0 ± 0.41	4.5 ± 0.69	49.1 ± 4.37	117.3 ± 14.05	18.9 ± 2.19
5	20.9 ± 1.17	2.0 ± 0.31	3.1 ± 0.43	4.3 ± 0.65	3.6 ± 0.39	39.4 ± 3.33	103.5 ± 13.12	16.9 ± 3.65
7	21.4 ± 1.29	3.4 ± 0.56	5.2 ± 0.49	5.2 ± 0.41	6.0 ± 1.09	30.5 ± 3.30	103.9 ± 17.12	14.5 ± 3.16
10	22.2 ± 0.67	1.9 ± 0.27	6.1 ± 0.71	5.0 ± 0.84	5.1 ± 0.65	55.0 ± 5.07	123.2 ± 3.97	19.8 ± 2.71
14	21.8 ± 0.86	2.6 ± 0.49	4.5 ± 0.61	2.9 ± 0.72	4.6 ± 0.93	46.0 ± 3.72	86.6 ± 7.44	21.2 ± 1.02
17	22.3 ± 0.91	2.1 ± 0.48	3.8 ± 0.81	3.3 ± 0.47	3.5 ± 0.94	35.1 ± 4.91	85.6 ± 4.10	16.6 ± 1.69
21	23.0 ± 1.15	2.2 ± 0.23	3.3 ± 0.27	3.9 ± 0.33	4.4 ± 0.62	39.7 ± 5.86	79.2 ± 9.25	22.9 ± 6.88
control	22.6 ± 1.02	2.8 ± 0.29	2.8 ± 0.40	4.0 ± 0.51	3.2 ± 0.55	48.0 ± 7.68	107.6 ± 12.91	34.5 ± 5.02

なり増加している。

宿主が StrongA 系マウスの場合 (表3) : 胸腺の重量は移植後1日目から対照群のそれを下回っている。

る。腸間膜根リンパ節と脾の重量は3日目と10日目にやや増加の傾向がみられる。左浅腋窩リンパ節の重量はやはり移植後1日目から増加の傾向を示し、7日目

から10日目にかけて著増(対照の約2倍)し、その後やや減少する。左深腋窩リンパ節の重量もほぼ同様な経時的变化を示す。右側の浅・深腋窩リンパ節の重量は7日目と10日目にやや増加するが、それ以外の時期には対照値を下回っている。一般に移植後の宿主リンパ組織の重量の変化は Strong A系においてとくに著明であった。

Db系とStrong A系マウスを通じてとくに注目される共通の所見は、所属リンパ節である左浅腋窩リンパ節の重量が10日目を頂点として著増することである。後述のように、これは主としてリンパ節内におけるリンパ球の増加のためと考えられる。

c) 宿主リンパ組織の組織学的・細胞学的所見

Db系、Strong A系マウスのいずれにおいても、移植後の所見には大きな差はみられなかったので一括して述べる。胸腺と脾には一定の変化はみられなかった。ただ、胸腺では皮質の厚さがやや減少する傾向がみられた。もっとも著明な変化は所属リンパ節の左浅腋窩リンパ節にみられた。これは当然予想されたところであるが、移植局所から離れたリンパ節にも反応がおこると思われるので、その代表として腸間膜根リンパ節をとりあげてその反応を調べた。

所属リンパ節

組織学的所見: 所属リンパ節の左浅腋窩リンパ節はその皮質が肥厚して、いわゆる偽二次小節(別名三次小節)^{25,26)}の形態をとる(写真1)。この部位には丈の高い内皮を特徴とする後毛細血管静脈(postcapillary venule)が存在し、この静脈の内皮間および内皮下には多数のリンパ球が介在している(写真2)。これは電子顕微鏡的にも確認されたが(写真3)、リンパ球は内皮間に介在するだけでなく、内皮細胞の胞体を貫通していると推定される像もみられた。この静脈の内腔にもかなり多数のリンパ球が存在し、宿主リンパ球の動員が盛んであることを示している。

組織学的所見のうち、もう一つ注目されるのはこの偽二次小節といわれる領域に多数の大型幼若リンパ球の出現がみられることである(写真4)。この細胞は皮膚移植後3日目頃から次第に増加し、その増殖は7日目から10日目にかけてもっとも著明になる。したがって、この時期にはメチルグリン・ピロニン染色を施した切片標本では、この細胞は胞体が赤染した大型のピロニン好性細胞として多数染め出される。また、電子顕微鏡的にはこの細胞は大きな円形の核、大きな核小体を持ち、とくにその胞体に豊富なりボソームを含む

ことが特徴である(写真5)。一方、皮質周辺の二次小節の反応はほとんどみられず、二次小節の数や明中心の大きさにほとんど変化は認められなかった。また、髄質においても形質細胞の増殖はみられなかった。

捺印標本における大型幼若リンパ球の出現率: Db系と Strong A 系の正常マウスの浅腋窩リンパ節にはそれぞれ0.8%と0.4%の大型幼若リンパ球が認められる。この細胞は核小体をそなえたきわめて特徴のある大型細胞で、皮膚移植後の捺印標本にはとくに多数出現するので容易にその像を捉えることができる(写真6)。どちらの系のマウスにおいても、移植後3乃至7日目にこの細胞は著しく増加し、10日目に最高(Db系2.5%、Strong A系2.6%)となり、その後次第に減少する(表4と5、図1)。したがって、大型幼若リンパ球の増加は脱落開始の時期と一定の関係があることがわかる(表1参照)。

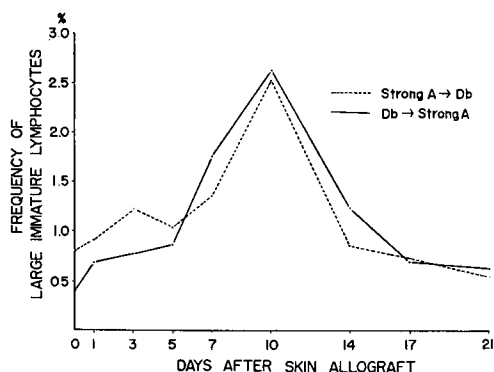


Fig. 1. Change in number of "large immature lymphocytes" in the regional lymph node (left superficial axillary lymph node) after skin allografting.

形質細胞の出現率: 皮膚移植後とくに、この細胞が増加する傾向はみられなかった(表4と5)。

その他の所見: そのほか、移植後早期の所属リンパ節リンパ球には注目すべき二、三の所見が得られた。一つは移植後3時間目前後の小リンパ球のMSPによるfast green-ヒストン量が正常小リンパ球のそれよりも約20%低下していることである。他の一つは移植後3乃至7日目の所属リンパ節の電子顕微鏡像において、小リンパ球の細胞質が多く的小突起を出し、胞体内に多数の飲小胞(pinosome)を含むのがみられること、あるいは小リンパ球と大食細胞とが密接し、とき

- Photo. 1.** Enlargement of paracortical area in regional lymph node (the left superficial axillary lymph node) on the 10th day after skin allografting. Animal No. SG 115 (Db→Strong A). $\times 50$.
- Photo. 2.** A postcapillary venule in the paracortical area of the same node as shown in Photo. 1. $\times 500$.
- Photo. 3.** Electron micrograph of postcapillary venule in the regional lymph node on the 3rd day after skin allografting. Two small lymphocytes (L) is penetrating between the endothelial cells (E). C : cavity of venule. R : erythrocytes. Animal No. SG 225 (CF#1→Db). $\times 3400$.
- Photo. 4.** A marked increase in "large immature lymphocytes" in the paracortical area of the same node as shown in Photos. 1 and 2. $\times 1130$.
- Photo. 5.** Electron micrograph of a "large immature lymphocytes" in the regional lymph node on the 10th day after skin allografting. Note large nucleus with prominent nucleolus and the cytoplasm rich in free ribosomes. Animal No. SG 235 (CF#1→Db). $\times 3400$.
- Photo. 6.** Imprint of the regional lymphnode on the 10th day after skin allograft. Note a marked proliferation of "large immature lymphocytes". Animal No. SG 122 (Db→Strong A). $\times 1130$.
- Photo. 7.** The regional lymph node on the 14th day after skin allografting and the daily injection of 6-MP. Note that all types of lymphocytes are greatly depleted. Animal No. SG 42 (Strong A→Db). $\times 250$.
- Photo. 8.** Imprint of the regional lymph node on the 10th day after skin allografting and the daily injection of 6-MP. Note the absence of large immature lymphocytes, comparing with Photo. 6. Animal No. SG 259 (Db→Strong A). $\times 1130$.

には両細胞の間に細胞質の融合を示すこともあった。これらの所見は移植抗原に対するリンパ球の初期の反応を示すものとして注目されるが、その詳細は共同研究者との共著として別に報告の予定である^{27,28,29)}。

腸間膜根リンパ節

所属リンパ節以外のリンパ節の代表としてえらばれた腸間膜根リンパ節における所見はつぎのとおりである。

組織学的所見：正常マウスの腸間膜根リンパ節は腋窩リンパ節にくらべて大きく、皮質には二次小節もしばしばみられる。移植後、とくに10日目以後には二次小節の数は増して明中心が大きくなり、皮質は肥厚して、その部位における大型幼若リンパ球の増加を示す個体がみられた。また、一般に10日目以後には髄質に形質細胞が増加する傾向が観察された。このような所見は Db系, StrongA系ともにほぼ同様であった。しかし、両者ともその所見にはかなりの個体差が認められ、強い反応を示す個体とこのような所見をほとんど示さない個体もみられた。これは皮膚移植後の腸間膜根リンパ節の反応は不定であることを示している。

捺印標本における大型幼若リンパ球の出現率：Db系, StrongA系マウスともに 正常の腸間膜根リンパ節におけるこの細胞の出現率は腋窩リンパ節よりもやや高い傾向がみられる (Db系1.3%, StrongA系0.9%)。皮膚移植後のこの細胞の反応は Db系 と StrongA系

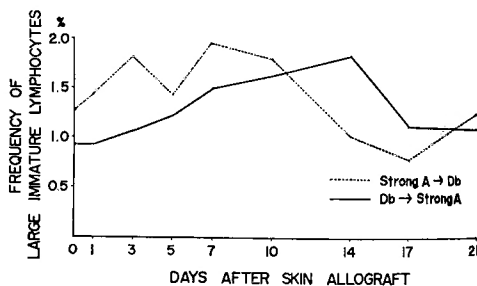
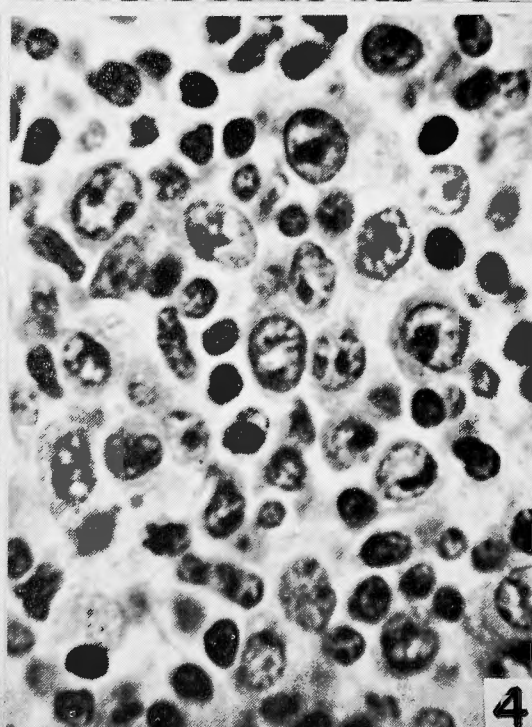
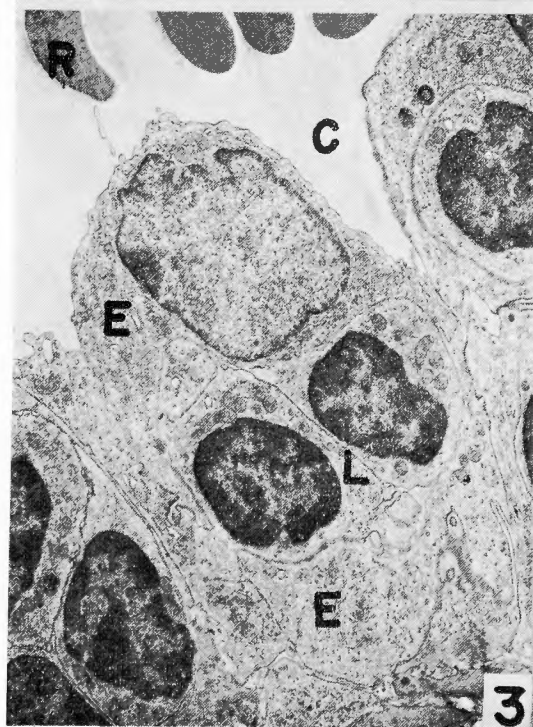
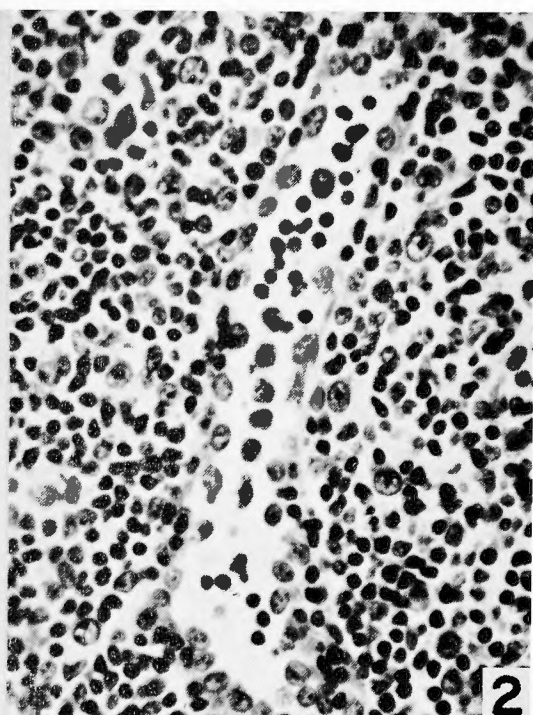
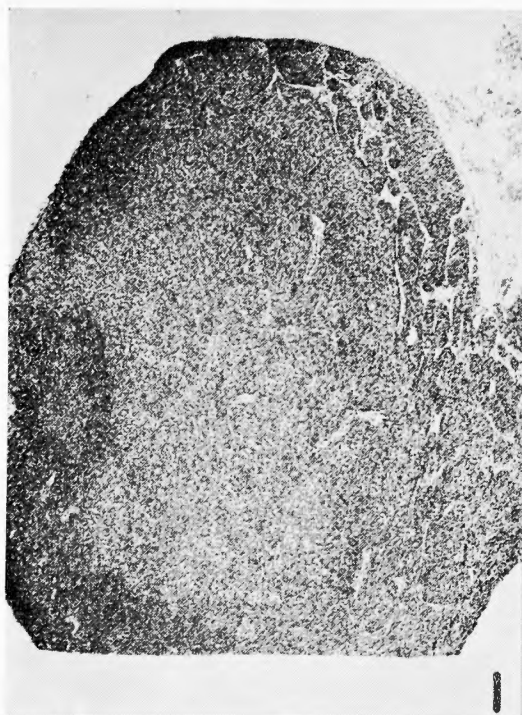


Fig. 2. Change in number of "large immature lymphocytes" in the mesenteric lymph nodes after skin allografting.

とではやや異っている (図2)。StrongA系ではこの細胞は移植後3日目から次第に増加して7乃至10日目に著増し、14日目に最高 (1.8%) となり、以後次第に減少する。これに対して、Db系では7日目に最高 (1.9%) となり、10日目にはやや低下し、14日以後急激に減少する (表6と7)。いずれにしても、両系マウスとも、皮膚移植後の腸間膜根リンパ節における大型幼若リンパ球の反応は所属リンパ節 (左浅腋窩リンパ節) のそれにくらべてやや弱いことがわかる。

形質細胞の出現率：この細胞は StrongA系マウスにおいては、皮膚移植後3日目から14日目にかけてやや増加の傾向がみられた (表7)。



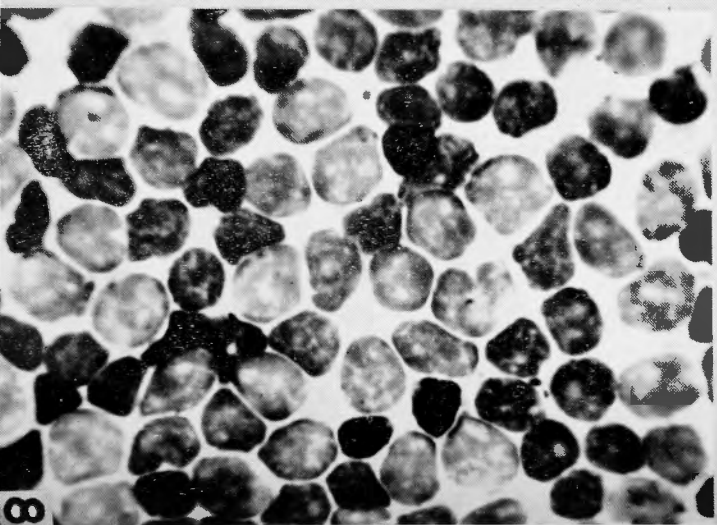
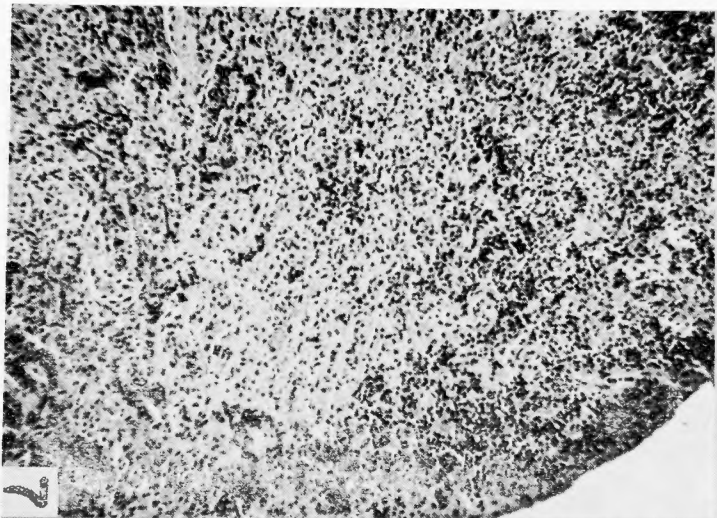
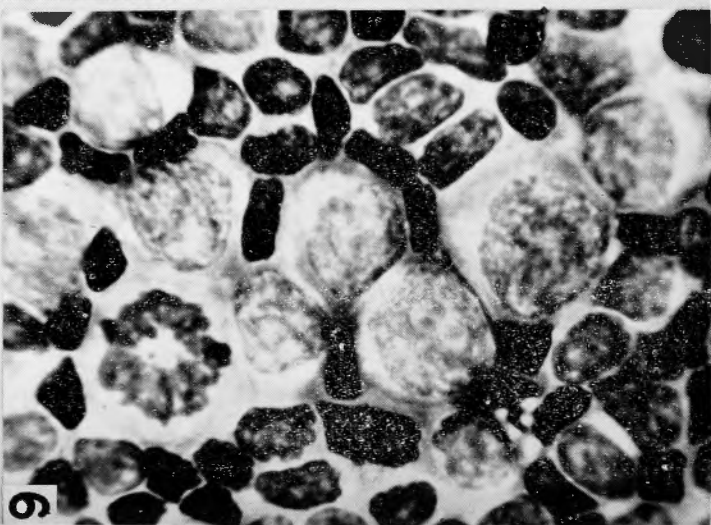
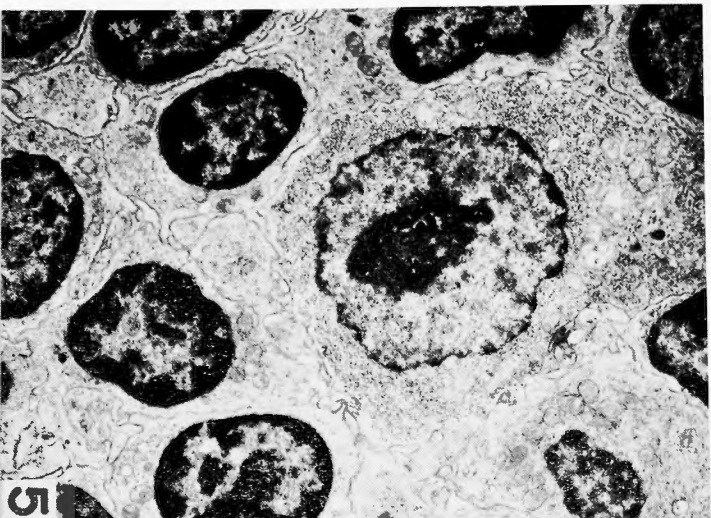


Table 4. Differential cell counts (%) from the left superficial axillary lymph nodes in Db-strain mice which were challenged with skin allografts from Strong A-strain mice. Mean \pm standard error (n = 6).

Days after skin allo-graft	Lymphocytes *				Plasma cells	Reticulum cells	Granulo-cytes	Others
	less than 9.0 μ	9.1 to 13.0 μ	more than 13.1 μ	total				
1	84.6 \pm 1.99	14.2 \pm 1.57	0.9 \pm 0.28	89.6 \pm 0.24		0.3 \pm 0.11	0.1 \pm 0.03	
3	85.5 \pm 2.05	13.0 \pm 1.65	1.2 \pm 0.37	99.6 \pm 0.09		0.3 \pm 0.08	0.1 \pm 0.03	0.1 \pm 0.05
5	85.5 \pm 1.66	12.9 \pm 1.57	1.0 \pm 0.27	99.4 \pm 0.16		0.6 \pm 0.15	0.1 \pm 0.04	
7	86.4 \pm 1.77	11.6 \pm 1.71	1.4 \pm 0.25	99.3 \pm 0.15		0.5 \pm 0.13	0.2 \pm 0.06	
10	87.4 \pm 1.57	9.8 \pm 1.30	2.5 \pm 0.63	99.7 \pm 0.15		0.2 \pm 0.13	0.1 \pm 0.03	
14	85.9 \pm 1.57	12.9 \pm 1.58	0.9 \pm 0.11	99.6 \pm 0.11		0.2 \pm 0.07	0.1 \pm 0.03	
17	89.1 \pm 0.66	9.7 \pm 0.85	0.7 \pm 0.14	99.8 \pm 0.38	0.1 \pm 0.04	0.2 \pm 0.08	0.2 \pm 0.15	
21	86.4 \pm 0.95	12.6 \pm 0.90	0.6 \pm 0.07	99.5 \pm 0.09	0.1 \pm 0.04	0.3 \pm 0.08	0.1 \pm 0.03	
control	84.0 \pm 1.51	14.1 \pm 1.11	0.8 \pm 0.16	99.2 \pm 0.37	0.1 \pm 0.04	0.6 \pm 0.19	0.5 \pm 0.17	0.1 \pm 0.04

* Lymphocytes were divided into three types according to their cell diameter.

Table 5. Differential cell counts (%) from the left superficial axillary lymph nodes in Strong A-strain mice which were challenged with skin allografts from Db-strain mice. Mean \pm standard error (n=6).

Days after skin allo-graft	Lymphocytes *				Plasma cells	Reticulum cells	Granulo-cytes	Others
	less than 9.0 μ	9.1 to 13.0 μ	more than 13.1 μ	total				
1	88.5 \pm 2.57	10.3 \pm 2.47	0.7 \pm 0.19	99.5 \pm 0.14		0.3 \pm 0.06	0.3 \pm 0.09	
3	90.2 \pm 0.80	8.4 \pm 0.81	0.8 \pm 0.15	99.3 \pm 0.15		0.4 \pm 0.06	0.3 \pm 0.14	
5	90.2 \pm 0.95	8.4 \pm 0.81	0.9 \pm 0.21	99.6 \pm 0.12		0.3 \pm 0.09	0.1 \pm 0.07	
7	90.8 \pm 0.99	6.9 \pm 0.85	1.8 \pm 0.37	99.4 \pm 0.17	0.2 \pm 0.10	0.4 \pm 0.12		
10	89.2 \pm 1.11	7.5 \pm 1.00	2.6 \pm 0.79	99.3 \pm 0.20	0.3 \pm 0.15	0.3 \pm 0.08	0.1 \pm 0.06	
14	87.1 \pm 1.56	10.8 \pm 1.38	1.2 \pm 0.13	99.2 \pm 0.41	0.4 \pm 0.22	0.3 \pm 0.10	0.2 \pm 0.12	
17	87.6 \pm 1.37	11.1 \pm 1.23	0.7 \pm 0.22	99.5 \pm 0.12		0.4 \pm 0.12	0.1 \pm 0.04	
21	89.1 \pm 0.59	9.8 \pm 0.80	0.6 \pm 0.13	99.5 \pm 0.16	0.1 \pm 0.04	0.4 \pm 0.13	0.2 \pm 0.09	
control	89.0 \pm 1.22	10.0 \pm 1.27	0.4 \pm 0.15	99.4 \pm 0.15	0.1 \pm 0.04	0.5 \pm 0.18	0.1 \pm 0.04	

* Lymphocytes were divided into three types according to their cell diameter.

Table 6. Differential cell counts (%) from the mesenteric lymph nodes in Db-strain mice which were challenged with skin allograft from Strong A-strain mice. Mean \pm standard error (n=6).

Days after skin allo-graft	Lymphocytes *				Plasma cells	Reticulum cells	Granulo-cytes	Others
	less than 9.0 μ	9.1 to 13.0 μ	more than 13.1 μ	total				
1	84.1 \pm 1.37	13.7 \pm 1.21	1.4 \pm 0.19	99.2 \pm 0.12	0.3 \pm 0.09	0.3 \pm 0.07	0.2 \pm 0.08	0.1 \pm 0.05
3	85.1 \pm 1.75	12.5 \pm 1.51	1.8 \pm 0.25	99.5 \pm 0.11	0.2 \pm 0.18	0.2 \pm 0.06	0.1 \pm 0.04	0.1 \pm 0.04
5	86.6 \pm 0.87	10.8 \pm 0.61	1.4 \pm 0.19	98.9 \pm 0.26	0.3 \pm 0.09	0.2 \pm 0.07	0.6 \pm 0.13	0.2 \pm 0.14
7	85.3 \pm 1.69	11.9 \pm 1.49	2.0 \pm 0.43	99.2 \pm 0.11	0.1 \pm 0.05	0.5 \pm 0.13	0.1 \pm 0.06	0.1 \pm 0.04
10	85.4 \pm 1.35	11.5 \pm 0.97	1.8 \pm 0.31	98.7 \pm 0.44	0.7 \pm 0.31	0.1 \pm 0.19	0.4 \pm 0.09	0.2 \pm 0.05
14	85.6 \pm 1.08	12.8 \pm 1.10	1.0 \pm 0.18	99.4 \pm 0.11	0.2 \pm 0.06	0.2 \pm 0.04	0.2 \pm 0.07	0.1 \pm 0.03
17	90.0 \pm 0.91	8.4 \pm 0.75	0.8 \pm 0.13	99.2 \pm 0.23	0.3 \pm 0.06	0.3 \pm 0.08	0.4 \pm 0.14	
21	89.4 \pm 1.22	9.4 \pm 1.21	1.3 \pm 0.29	100 \pm 0.53	0.2 \pm 0.05	0.2 \pm 0.07	0.2 \pm 0.09	
control	87.6 \pm 1.40	10.1 \pm 1.08	1.3 \pm 0.28	98.7 \pm 0.64	0.6 \pm 0.22	0.2 \pm 0.08	0.3 \pm 0.10	

* Lymphocytes were divided into three types according to their cell diameter.

Table 7. Differential cell counts (%) from the mesenteric lymph nodes in Strong A-strain mice which were challenged with skin allograft from Db-strain mice. Mean \pm standard error (n=6).

Days after skin allo-graft	Lymphocytes *				Plasma cells	Reticulum cells	Granulo-cytes	Others
	less than 9.0 μ	9.1 to 13.0 μ	more than 13.1 μ	total				
1	88.1 \pm 2.34	10.0 \pm 1.54	0.9 \pm 0.17	99.1 \pm 0.29	0.5 \pm 0.11	0.1 \pm 0.05	0.2 \pm 0.11	
3	90.2 \pm 1.24	7.0 \pm 0.65	1.1 \pm 0.24	98.1 \pm 0.64	1.2 \pm 0.54	0.3 \pm 0.07	0.3 \pm 0.08	
5	89.0 \pm 1.05	7.7 \pm 0.94	1.2 \pm 0.19	97.9 \pm 0.50	1.4 \pm 0.25	0.4 \pm 0.12	0.4 \pm 0.10	
7	87.3 \pm 1.98	8.8 \pm 1.09	1.5 \pm 0.43	97.6 \pm 1.13	1.4 \pm 0.95	0.5 \pm 0.13	0.2 \pm 0.06	0.1 \pm 0.04
10	87.8 \pm 1.02	9.2 \pm 1.18	1.6 \pm 0.18	98.6 \pm 0.50	1.0 \pm 0.30	0.2 \pm 0.06	0.3 \pm 0.16	0.3 \pm 0.09
14	87.6 \pm 1.38	8.2 \pm 0.61	1.8 \pm 0.17	97.6 \pm 0.90	1.8 \pm 0.68	0.2 \pm 0.07	0.4 \pm 0.26	0.1 \pm 0.04
17	88.4 \pm 1.55	9.8 \pm 1.31	1.1 \pm 0.29	99.4 \pm 0.20	0.2 \pm 0.07	0.1 \pm 0.02	0.2 \pm 0.14	
21	88.0 \pm 1.55	8.0 \pm 0.90	1.1 \pm 0.18	97.1 \pm 1.13	0.9 \pm 0.51	0.5 \pm 0.12	0.4 \pm 0.12	0.1 \pm 0.04
control	89.3 \pm 0.82	8.8 \pm 0.96	0.9 \pm 0.12	99.0 \pm 0.51	0.8 \pm 0.47	0.2 \pm 0.09		

* Lymphocytes were divided into three types according to their cell diameter.

2. 6-MP 投与の同種皮膚移植に及ぼす影響

André¹¹⁾らは家兎では皮膚移植後、6-MPを投与するとリンパ組織における大型幼若リンパ球の増生が抑制され、皮膚の生着期間も延長されることをみている。著者はこのことを近交系マウスを用いて調べ、以下の所見を得た。

a) 6-MP 投与による同種皮膚移植片の生着期間の延長

上記のように、皮膚の同種移植を行なった Db系と StrongA 系宿主マウスに 6-MP を 1 日に体重 1kg 当たり 10mg の割合に、移植当日から連日腹腔内に注射すると、移植皮膚片の生着日数はかなり延長されることがわかった(表 8)。すなわち、Db系マウスでは脱落開始期間が約 3 日間延長され、StrongA系マウスでは脱落開始時期は約 5 日間、完全脱落時期は約 7 日間延長された。これに対して、6-MP を皮膚移植 1 週間

前から投与された群や、30mg あてを 3 日目毎に間隔をあけて投与された群ではこのような生着期間の延長は認められなかった。

b) 6-MP 投与の所属リンパ節の反応に及ぼす影響

ここでは主として皮膚移植片の生着期間の延長がみられた群の宿主マウスにおけるリンパ組織、とくに所属リンパ節の反応を取りあげる。既述のように、宿主のリンパ組織は移植後 10 日目を中心にもっとも著明な変化を示すので、以下主として、この時期の所見を中心に述べることにする。

重量の変化

所属リンパ節である左浅腋窩リンパ節の重量は 6-MP 連続投与後 10 日目には StrongA 系マウスではやや減少するが、Db系では皮膚移植だけの対照マウスのそれとほとんど変わらない(表 9)。右浅腋窩リンパ

Table 8. Effect of 6-MP on survival time of skin allograft in mice.
Mean \pm standard error (n=10, *n=8).

Strain of donor mice	Strain of host mice	Nature of experiment	Day of onset of graft rejection	Day of complete rejection of graft
Strong A	Db	untreated	9.2 \pm 0.65	19.0 \pm 0.91
		6-MP treated *	12.5 \pm 0.02	20.5 \pm 1.72
Db	Strong A	untreated	7.8 \pm 0.43	17.2 \pm 0.97
		6-MP treated	12.9 \pm 0.86	24.2 \pm 2.91

Table 9. Effect of 6-MP on weight of lymphoid organs in host mice
10 days after skin allograft. Mean \pm standard error.
(untreated: n = 6. 6-MP treated: n = 7).

Strain of donor mice	Strain of host mice	Body weight (gm)	Axillary lymph nodes (mg)				Mesenteric lymph nodes (mg)	Spleen (mg)	Thymus (mg)	
			Superficial		Deep					
			Right	Left	Right	Left				
Strong A	Db	untreated	21.2 ± 0.79	1.9 ± 0.15	4.7 ± 0.60	3.2 ± 0.35	2.8 ± 0.58	46.3 ± 5.81	106.8 ± 15.25	35.4 ± 3.89
		6-MP	20.1 ± 3.12	3.9 ± 0.58	4.3 ± 0.38	4.7 ± 0.72	3.7 ± 0.59	26.2 ± 5.24	103.5 ± 13.60	27.5 ± 3.29
Db	Strong A	untreated	22.2 ± 0.67	1.9 ± 0.27	6.1 ± 0.71	5.0 ± 0.84	5.1 ± 0.65	55.0 ± 5.07	123.2 ± 3.97	19.8 ± 2.71
		6-MP	20.7 ± 1.27	5.4 ± 1.26	4.0 ± 0.79	2.5 ± 0.28	4.0 ± 0.63	30.1 ± 3.47	91.7 ± 12.59	15.5 ± 1.63

Table 10. Effect of 6-MP on frequency (%) of large immature lymphocytes in left superficial axillary lymph nodes 10 days after skin allograft in mice. Mean \pm standard error (n=6).

Strain of donor mice	Strain of host mice		Lymphocytes *				Plasma cells	Reticulum cells	Granulocytes	Others
			less than 9.0 μ	9.1 to 13.0 μ	more than 13.1 μ	total				
Strong A	Db	non-treated	87.4 \pm 1.57	9.8 \pm 1.30	2.5 \pm 0.63	99.7 \pm 0.15		0.2 \pm 0.13	0.1 \pm 0.03	
		6-MP treated	79.2 \pm 3.13	18.6 \pm 2.96	1.2 \pm 0.21	99.0 \pm 0.17		0.7 \pm 0.13	0.3 \pm 0.06	
Db	Strong A	non-treated	89.2 \pm 1.11	7.5 \pm 1.00	2.6 \pm 0.79	99.3 \pm 0.20	0.3 \pm 0.15	0.3 \pm 0.08	0.1 \pm 0.06	
		6-MP treated	87.3 \pm 1.91	11.5 \pm 1.82	0.6 \pm 0.25	99.4 \pm 0.17		0.5 \pm 0.13	0.1 \pm 0.05	

* Lymphocytes were divided into three types according to their cell diameter.

節の重量はどちらの系でもむしろ対照値を上回っている。深腋窩リンパ節の重量は StrongA 系マウスではやや減少しているが、Db系では 対照重量を上回っている。このように、移植局所に近いリンパ節の重量が 6-MP 投与後10日目前後にはあまり減少しないのに対して、腸間膜根リンパ節の重量は対照重量にくらべて著しく減少していることが注目される(表9)。

所属リンパ節の所見

これについては Db系と StrongA系 マウスの間には差がみられないので一括して述べる。

組織学的所見：6-MP 連日投与後10日目には、所属リンパ節である左浅腋窩リンパ節の皮質には肥厚がみられる。しかし皮質リンパ球はかなり変性におちいり、細胞密度が疎となる。そのため、皮質の肥厚部には後毛細血管静脈が露出して、皮膚移植だけを受けた群にみられたような、この血管周辺におけるリンパ球の密集像はみられない。とくに大型幼若リンパ球はほとんどみることができない。しかし、この時期には健全な小リンパ球はなおかなり存在しており、リンパ節全体の容積もそれほど減少していないか、むしろ増大の傾向もみられる。これは上述の重量の変化の様子とほぼ一致している。しかし、6-MP の連続投与14日後にはリンパ球はほとんど崩壊して、リンパ節実質は細胞と結合組織におきかえられる(写真7)。

大型幼若リンパ球の出現率：移植後10日目に、所属リンパ節におけるこの細胞の出現率をくらべてみる

と、6-MP 投与群では非投与群の約1/2~1/4に抑制されていることがわかる(表10)。このような 6-MP による大型幼若リンパ球の増殖の抑制は上述の移植皮膚片の生着期間の延長と密接な関係があるものと考えられる。

c) その他のリンパ組織における所見

正常マウスの胸腺、腸間膜根リンパ節および脾の組織学的所見に及ぼす 6-MP の影響についてはすでに協同研究者小林の報告がある³⁰⁾。皮膚の同種移植後 6-MP を投与した場合の所見も原則としてこれと同じであった。すなわち、6-MP の連続投与10日目以後には胸腺および腸間膜根リンパ節においては皮質の細胞密度がかなり減少し、障害の極期にあたる14日目以後においてはリンパ球の崩壊が著しく、後者においては二次小節の消失がみられる。脾では白髄が高度に萎縮し、赤髄の細胞密度も疎となるが、ここでは、移植後10日目頃には赤芽球の増生がかなり著明である。

IV. 論 議

この研究はマウスの皮膚の同種移植において、移植片の脱落開始の時期に前後して宿主リンパ節、とくにその所属リンパ節に大型幼若リンパ球が著しく増殖すること、6-MP の投与によって移植皮膚片の生着期間はかなり延長され、そのような個体ではこの型のリンパ球の増殖が著しく抑制されていることを示したものである。以下、そのことの意義について考え、移植片

に対するリンパ球の障害作用について述べてみたい。

大型幼若リンパ球の出現の意義とその増生機構

ここでわれわれが大型幼若リンパ球 (large immature lymphocytes) とよぶ細胞はこれまでリンパ胚球 (lymphogonia) とかりンパ芽球 (lymphoblast) といわれたものを一括したものである。花岡³¹⁾はリンパ球のうち直径15 μ 以上の細胞質をもち、巨大な核小体1個をそなえている細胞をリンパ胚球、細胞質がこれよりやや小さく、1~3個の小さな核小体をそなえている細胞をリンパ芽球として区別しているが、氏もいうように、両者の鑑別はそれほど容易ではない。それで、われわれは両者を一括して大型幼若リンパ球とよぶことにしている (栗屋他)³²⁾。これはまたメチルグリーン・ピロニン染色でその細胞質はピロニンに強く染まるので、大型ピロニン好性細胞 (large pyroninophilic cells) とよばれる (Gowans ら)^{33, 34, 35)}。Dameshek³⁶⁾ はこれがリンパ球や形質細胞などの免疫細胞 (immunocyte) の母細胞という意味で免疫芽球 (immunoblast) とよぶことを提唱している。

今日ではこのような大型幼若リンパ球は胸腺由来の小リンパ球がリンパ節や脾に定着し、いわゆる免疫感受型小リンパ球 (immunocompetent small lymphocytes) となり、これが抗原刺激によって大型の幼若細胞に分化したものとみなされている³²⁾。この細胞はさらに分裂増殖して再び小リンパ球になるが、これは免疫学的に活性で実際に免疫反応の遂行にあずかるので、免疫活性型小リンパ球 (immunologically active small lymphocytes) または免疫遂行型小リンパ球 (immunoperforming small lymphocytes) とよばれる³²⁾。これを皮膚移植の場合にあてはめると、宿主の免疫感受型小リンパ球は移植抗原の刺激に反応して大型幼若リンパ球に分化し、この細胞が分裂をくりかえして免疫遂行型小リンパ球となり、これが直接または間接に移植片を障害するものと考えられる。上述のわれわれの実験の結果もこのことを示唆している。すなわち、皮膚の同種移植後3日目以後には所属リンパ節には大型幼若リンパ球が増加し、これは10日目に最高の出現率を示した。この時期にほぼ一致して移植皮膚片には脱落開始の所見がみられる。一方、組織所見としては、これに一致して所属リンパ節の皮質は肥厚していわゆる偽二次小節の像を呈する。そしてこの部位には後毛細血管静脈 (postcapillary venule) が存在し、その周辺には大型幼若リンパ球が多数出現することは既述のとおりである。この部位は

旁皮質域 (paracortical area, Parrot ら)³⁷⁾ または胸腺依存域 (thymus-dependent area, Good ら)³⁸⁾ とよばれている。この部位は抗原刺激に対して最初に反応してリンパ球の増殖反応をおこす部位であり、またここに集積するリンパ球は胸腺由来であることが明らかになっている。一般に抗原刺激に対するリンパ組織の反応は二相性であることが知られている (尾曾越³⁹⁾, 栗屋³²⁾)。すなわち、リンパ節を例にとると、反応の第一段階では二次小節以外の皮質 (すなわち paracortical area) に上述の大型幼若リンパ球が出現し、活潑に増殖する。第二段階では二次小節の芽中心細胞が活潑になり、さらに髄質における形質細胞の増殖も著明となる。このような二相性の反応はチフスワクチンとか牛血清などの液性抗原の注射に対しては著明に認められる。われわれの場合にも、皮膚移植後、所属リンパ節には大型幼若リンパ球の増殖反応が著明にみられたことは上述のとおりである。しかし、二次小節明中心の出現と増加、形質細胞の増加などはほとんどみられなかった。これは同種移植のような抗原に対しては第一相の反応はつよくあらわれるが、第二相の反応はそれほど強くおこらないためと考えられる。ただし、皮膚移植の場合にも、第二回目の移植 (second set) においては第二相の反応もつよくおこることが知られている⁴¹⁾。なお、われわれの例では皮膚移植後、宿主胸腺の重量が減少し、皮質リンパ球の減少がみられる個体が観察されたが、これは上述のリンパ節皮質の胸腺依存域のリンパ球の増殖と或る程度関係があるかもしれない。

このように、皮膚移植後の所属リンパ節における主な反応は旁皮質域 (paracortical area) の肥大と、この部位における大型幼若リンパ球の著明な増殖である。したがって、つぎにこのような大型幼若リンパ球の増殖機構が問題である。以下、これについて少し考えてみたい。既述のように、移植抗原を受けた所属リンパ節の小リンパ球には比較的早期に細胞化学的ならびに超微細構造上の重要な変化がみられる。すなわち、細胞化学的には、皮膚移植後3時間目において局所リンパ節小リンパ球の fast green-ヒストン量が正常リンパ球のそれにくらべて約20%低下していることがわかった。一般にヒストンは細胞核内において遺伝子 (DNA) と結びつき、DNA の作用を不活性化してタンパク質合成を抑制することが知られている。したがって、上述のヒストン量の低下はこういった抑制をとり、リンパ球の免疫活性物質の合成を促進する

ように働くものと思われる。こうして免疫感応型小リンパ球は免疫学的に活性をもった大型幼若リンパ球に分化するものと考えられる。一方、電子顕微鏡的には、皮膚移植後3～5日目において、所属リンパ節の小リンパ球が細胞質から多くの小突起を出し、胞体内に多数の飲小胞を含む像、あるいは小リンパ球が大食細胞と密接し、ときにはその細胞質の一部が融合している像がみられた。前者はリンパ球がリンパ流に乗って運ばれてきた抗原を飲作用(pinocytosis)によって直接とりこんでいることを示唆する像であり、後者は大食細胞がとりこんだ抗原情報を細胞質の直接の融合によってリンパ球が受けとっていることを示唆する像と考えられる。

このように、所属リンパ節の小リンパ球は抗原情報をうけて、ヒストン量の低下という細胞化学的に重要な変化をおこすとともに、一方では形態学的にも微妙な変化を示していることがわかる。そして、これらの変化が小リンパ球から大型幼若リンパ球への分化と増殖につながっているものと思われる。

6-MP の大型幼若リンパ球の増殖抑制機構

既述のように、移植皮膚片の脱落開始の時期と大型幼若リンパ球の増殖の時期とは密接な関係がある。そして、6-MPを連続投与することによって、この細胞の増殖が著明に抑制され、同時に皮膚の生着期間もかなり延長されることは、この細胞の増殖が移植皮膚片の破壊に大きな役割を演じていることを示している。このような6-MPによる免疫作用の抑制についてはすでに多くの報告があるが、その作用機構についてはなお明らかでない点が多い。一般に6-MPはpurine nucleotide生合成系におけるIMP(inosine-5'-monophosphate)がAMP(adenosine-5'-nucleotide)になるのを止めるとされている(田中)⁴⁰⁾。これが細胞の増殖阻害をおこす中心的な作用点と考えられている。一方、Sercarzら⁴¹⁾は免疫細胞の抗体産生に至る分化の過程をX-Y-Z模型で説明した。すなわち、抗体産生にはX(virgin immunological competent cells), Y(memory cells), Z(antibody forming cells)の三つの細胞群が存在し、抗原刺激によってX→Y→Zのように分化するものとした。そして6-MPはY→Zの分化の段階で作用するといわれている(松本と大津)。⁴²⁾X-Y-Z模型は機能的な立場から分類されたもので、これらの三つの細胞、とくにYの記憶細胞(memory cells)が形態学的にどの細胞に対応するか明らかでない。しかし、すくなくともY細胞のごく

幼若な細胞はわれわれがさきに述べた免疫感応型小リンパ球に対応すると考えることは無理ではないであろう。したがって、6-MPは免疫感応型小リンパ球から大型幼若リンパ球への分化と増殖を抑制しているものと思われる。そして、これが免疫遂行型小リンパ球の増殖の抑制につながり、その結果として移植皮膚片の生着期間の延長をひきおこすものと考えられる。この点に関しては、目下教室で細胞化学的な面から追求がなされている。なお、6-MPの効果は永久的でないのは大型幼若リンパ球がこの薬剤に対してやがて抵抗性をもつに至るためと考えられる¹²⁾。また、6-MPを皮膚移植の1週間前から投与した場合、および間隔をあけて投与した場合には、皮膚の生着期間に対してみるべき延長効果がなかったことは既述のとおりである。この理由はあまり明らかではないが、この薬剤は前投与ではあまり免疫抑制効果がないことが指摘されている⁴³⁾ことと関係があるかもしれない。

リンパ球の移植片に対する障害作用

以上述べたところから、リンパ球が移植皮膚片の脱落に対して重要な役割を演ずることは充分に理解することができる。文献をみても、移植皮膚片の破壊には細胞性因子の関与を重視する学者が多い¹⁻¹⁷⁾。もっとも、体液性の同種抗体(isoantibodies, 免疫グロブリン)の関与が重要であるとする学者もあって^{8,44,45,46,47,48)}この点では必ずしも意見が一致しているとはいえない。しかし、今日では一般にリンパ球がいわゆる細胞性抗体をもち、これが移植片を破壊にみちびくとの考えが支配的である。ただ、この場合、リンパ球が何らかの形で免疫グロブリンを保持していて、その作用により移植片を障害するのか、このような免疫グロブリンとは全く別の純粋に細胞作用の過程だけで移植片を障害するのか、という点では意見がわかれていた。ところが、最近ではこの二つの説をうまく組み合わせて、リンパ球の標的細胞に対する障害作用を説明しようとする傾向がみられるようになった。これによると、免疫グロブリンは細胞結合抗体(cell-bound antibodies)^{49,50)}または細胞親和性抗体(cytophilic antibodies)^{51,52,53)}としてリンパ球(または大食細胞)の表面に存在していて、リンパ球と移植片とを結合させ、そこでリンパ球は細胞障害因子(lymphocyte cytotoxic factor, LCF)^{54,55,56)}または細胞遊走阻害因子(migration inhibitory factor, MIF)^{57,58)}のような物質を放出して移植片を障害するというのである。この考え方によれば、抗体はリンパ球を標的細胞

に結びつける役目だけをもつことになり、細胞免疫における体液性因子と細胞性因子の役割が一応明確に区別されたことになる。このような考え方は、なお、仮説の域を出ない面も多いが、細胞免疫に対してきわめて示唆に富む見解といえる。花岡^{15,16)}はリンパ胚球には体液性抗体 (IgM) をつくる細胞系由来のものと、小リンパ球の幼若化によって生じ、IgM をつくりださないものとの二型があるとし、後者が上述の細胞障害因子を放出して移植片の障害にあずかることを指摘している。これはリンパ球に免疫グロブリン (IgM) をつくる集団とは別に細胞障害的にだけ働く集団があることを示したものととして注目される。

われわれの場合にも、皮膚移植後、所属リンパ節と腸間膜根リンパ節に著明に増殖した大型幼若リンパ球は小リンパ球から分化した細胞集団である可能性がよいことはさきに指摘したとおりである。ただ、これらの集団がすべて非特異的細胞障害因子をもつ細胞で、IgMをつくる細胞を全く含まないとは考え難い。しかし、家兎で皮膚移植を行なった Nagai⁵⁹⁾の観察によると、移植後4～5日目を頂点として所属リンパ節にはやはり著明に大型幼若リンパ球が増生するが、そのうちのわずか13%だけが IgM 陽性細胞にすぎないというから、その大部分は非特異的に細胞障害的に働くリンパ球集団であるとみなしてさしつかえない。

いずれにしても、皮膚の同種移植の場合、小リンパ球とこれから分化する大型幼若リンパ球の移植片に対する障害の機序は上述のようなものであると考えられる。したがって、このようなリンパ球の機能はリンパ球自身が移植片と接触してはじめておこることが推定される。このことの実証は第2編の課題である。

V. 結 語

近交系の Db 系と StrongA 系 マウスを用いて皮膚の同種移植を行ないつぎの結果を得た。

1) 移植皮膚片の脱落開始の時期は Db 系 マウスではほぼ9日目、StrongA 系 マウスではほぼ8日目、完全脱落の時期はそれぞれ、ほぼ19日目と17日目であった。

2) 移植後、所属リンパ節 (左浅腋窩リンパ節) の重量はどちらの系でも増加し、10日目には正常マウスの約2倍強を示した。これはリンパ節におけるリンパ球の増加を示唆している。

3) 組織学的所見として目立つのは、所属リンパ節の旁皮質域 (paracortical area) が肥大し、ここに

大型幼若リンパ球が著明に増殖することである。一方、その捺印標本をみると、移植後3～7日目にかけて大型幼若リンパ球が多数出現する。その出現率は10日目に最高となり、Db 系マウスでは正常の約3倍 (2.5%)、StrongA 系 マウスでは約6倍 (2.6%) を示した。このように、この細胞の増加の頂点と、皮膚の脱落開始の時期とはほぼ一致している。なお、このような大型幼若リンパ球の増殖に先だって、所属リンパ節には小リンパ球の fast green-ヒストン量の低下、小リンパ球と大食細胞との細胞融合などの所見がみられた。

4) 6-MP を移植当日から毎日1回連日投与 (10mg/kg/day) すると、皮膚の生着期間はかなり延長された。すなわち、Db 系 マウスでは脱落開始が約3日間延長され、StrongA 系 マウスでは脱落開始は約5日間、完全脱落は約7日間延長された。

5) 6-MP 投与群の移植後10日目における所属リンパ節の大型幼若リンパ球の出現率は Db 系 マウスでは非投与群の約1/2 (1.2%)、StrongA 系 マウスでは約1/4 (0.6%) に低下している。このことは6-MP が小リンパ球から大型幼若リンパ球への分化を抑制し、それによって、皮膚の生着期間の延長を招来したことを示唆している。

6) 上述の所見をもとにして、大型幼若リンパ球の分化と増殖の機構が論議され、さらにリンパ球の移植片に対する障害機序についても検討が加えられた。

文 献

- 1) Billingham, R. E., Brent, R. E. and Medawar, P. B.: Quantitative studies on tissue transplantation immunity. II. The origin, strength and duration of actively and adoptively acquired immunity. Proc. Roy. Soc. London, 143 B: 58-80, 1954.
- 2) Mitchison, N. A.: Studies on the immunological response to foreign tumor transplants in the mouse. I. The role of lymph node cells in conferring immunity by adoptive transfer. J. exp. Med., 102: 157-177, 1955.
- 3) Billingham, R. E. and Silvers, W. K.: Sensitivity to homografts of normal tissues and cells. Ann. Rev. Microbiol., 17: 531-564, 1963.
- 4) Wilson, D. B.: The reaction of immunologically activated lymphoid cells against homologous target tissue cells in vitro. J. Cell Comp. Physiol., 62: 273-286, 1963.

- 5) Billingham, R. E., Silvers, W. K. and Wilson, D. B. : Further studies on adoptive transfer of sensitivity to skin homografts. *J. exp. Med.*, 118 : 397-420, 1963.
- 6) Billingham, R. E. and Silvers, W. K. : Immunological aspects of tissue transplantation. *In* Samter, M. : Immunological Disease, pp. 172-187, Little, Brown and Company, Boston, 1966.
- 7) Wilson, D. B., Silvers, W. K. and Billingham, R. E. : Failure to transfer sensitivity to skin homografts by means of 'immune' lymphoid cells in diffusion chambers. *Nature*, 209 (5030) : 1359-1360, 1966.
- 8) Stetson, C. A. : The role of humoral antibody in the homograft reaction. *Advance in Immunol.*, 3 : 97-130, 1963.
- 9) Scothorne, R. J. and McGregor, J. A. : Cellular changes in lymph nodes and spleen following skin homografting in the rabbit. *J. Anat.*, 89 : 283-292, 1955.
- 10) Scothorne, R. J. : The effect of cortisone acetate on the response of the regional lymph node to a skin homograft. *J. Anat.*, 90 : 417-427, 1956.
- 11) André, J. A., Schwartz, R. S., Mitus, W. J. and Dameshek, W. : The morphologic responses of the lymphoid system to homografts. I. First and second set responses in normal rabbits. *Blood*, 19 : 313-333, 1962.
- 12) André, J. A., Schwartz, R. S., Mitus, W. J. and Dameshek, W. : The morphologic responses of the lymphoid system to homografts. II. The effects of antimetabolites. *Blood*, 19 : 334-348, 1962.
- 13) André-Schwarz, J. : The morphologic responses of the lymphoid system to homografts. III. Electron microscopy study. *Blood*, 24 : 113-133, 1964.
- 14) Awaya, K. and Ikeda, K. : Role of the host lymphocytes in allogeneic skin grafting. *Jap. J. Transpl.*, 1 : 36, 1965.
- 15) 花岡正男 : In vitro におけるリンパ球の非特異的細胞障害作用—細胞免疫におけるリンパ球の役割について—. *最新医学*, 24 : 1469-1477, 1969 (昭44).
- 16) 花岡正男 : リンパ球の多様性について. 三橋進, 相沢幹, 花岡正男編, 免疫の病理, 261-290頁. 朝倉書店, 東京, 1969 (昭44).
- 17) 山下清章, 飯島宗一 : リンパ球の意義 病理学の立場から—. *最新医学*, 24 : 1592-1599, 1969 (昭44).
- 18) Billingham, R. E. and Medawar, P. B. : The technique of free skin grafting in mammals. *J. exp. Biol.*, 28 : 385-402, 1951.
- 19) Billingham, R. E. : Free skin grafting in mammals. *In* Billingham, R. E. and Silvers, W. K. : Transplantation of tissues and cells. pp. 1-26, The Wistar Institute Press, Philadelphia, 1961.
- 20) 佐藤清, 柿崎真吾, 水谷恒一, 三浦慶造, 石川義信 : マウスに於ける皮膚移植実験の技術に関する2, 3の考察. *総合医学*, 15 : 183-185, 1958 (昭和33).
- 21) 藤井源七郎, 鈴木正明 : 皮膚移植の手技と成績判定. *移植*, 1 : 43-55, 1966 (昭41).
- 22) Chase, H. B., Montagna, W. and Malone, J. D. : Changes in the skin in relation to the hair growth cycle. *Anat. Rec.*, 116 : 75-81, 1953.
- 23) Rundall, P. and Dushoff, I. M. : Skin cycles in rodents. *Transpl. Bull.*, 3 : 47-48, 1956.
- 24) Ballantyne, D. L. and Converse, J. M. : The relation of hair cycles to the survival time of suprapannicular and subpannicular skin homografts in rats. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 64 : 958-966, 1957.
- 25) Ehrlich, W. E. : Studies of the lymphatic tissue. I. The anatomy of the secondary nodules and some remarks on the lymphatic and lymphoid tissue. *Amer. J. Anat.*, 43 : 347-383, 1929.
- 26) Ehrlich, W. E. : The role of the lymphocyte in the circulation of lymph. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 66 (Art 8) : 823-858, 1946.
- 27) 栗屋和彦 : 拒否反応の形態学. *日本口腔科学会雑誌*, 19 : 277-283 1970 (昭45).
- 28) 栗屋和彦・友永進・広兼皓之 : 免疫リンパ球のヒストン量の変化. *山口医学*, 印刷中, 1970.
- 29) 栗屋和彦・原田史子・池田幸策 : 同種皮膚移植後の所属リンパ節リンパ球の電子顕微鏡的所見. *山口医学*, 印刷中, 1970.
- 30) 小林憲治 : 若い成熟マウスの造血組織に及ぼす6-mercaptopurineの影響. *日組録*, 24 : 319-333, 1964 (昭39).
- 31) 花岡正男 : 淋巴胚球——その免疫細胞学. *日本臨床*, 22 : 2325-2332, 1964 (昭39).
- 32) 栗屋和彦・原田史子・友永進・寺中正樹 : 免疫細胞の動態とグリチルリチン. *Minophagen Medical Review*, 14 : 149-161, 1969 (昭44).
- 33) Gowans, J. L. : The fate of parental strain small lymphocytes in F₁ hybrid rats. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 99 : 432-455, 1962.
- 34) Gowans, J. L., McGregor, D. D., Cowen, D. M. and Ford, C. E. : Initiation of immune

- responses by small lymphocytes. *Nature*, **196** (4855) : 651-655, 1962.
- 35) Gowans, J. L., McGregor, D. D. and Cowen, D. M. : The role of small lymphocytes in the rejection of homografts of skin. *In* Wolstenholme, G. E. W. and Knight, J. : The immunologically competent cell. Ciba Found. Study Group 16, pp. 20-37, J. & A. Churchill, London, 1963.
- 36) Dameshek, W. : "Immunoblasts" and "Immunocytes" an attempt at a functional nomenclature. *Blood*, **21** : 243-245, 1963.
- 37) Parrot, D. M. V., de Sousa, M. A. B. and East, J. : Thymus-dependent areas in the lymphoid organs of neonatally thymectomized mice. *J. exp. Med.*, **123** : 191-204, 1966.
- 38) Good, R. A., Cooper, M. D., Peterson, R. D. A., Kellum, M. J., Sutherland, D. E. R. and Gabrielsen, A. E. : The role of the thymus in immune process. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **135** (Art 1) : 451-478, 1966.
- 39) 尾曾越文亮 : リンパ球の動態——リンパ節——最新医学, **21** : 1190-1210, 1966 (昭41).
- 40) 田中信男 : 抗免疫剤の作用機序. 移植, **2** : 1-7, 1967 (昭42).
- 41) Sercarz, E. E. and Byers, V. S. : The X-Y-Z scheme of immunocyte maturation. III. Early IgM memory and the nature of the memory cell. *J. Immunol.*, **98** : 836-843, 1967.
- 42) 松本雄雄, 大津紘一郎 : 免疫抑制剤について. 武田研究所年報, **27** : 197-246, 1968 (昭43).
- 43) 松本雄雄, 大津紘一郎 : 薬剤の作用からみた免疫1次反応. 免疫シンポジウム, **2** : 31-42, 1968.
- 44) Steinmuller, D. : Passive transfer of immunity to skin homografts in rats. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **99** : 629-644, 1962.
- 45) Najarian, J. S. and Feldman, J. D. : Passive transfer of transplantation immunity. I. Tritiated lymphoid cells. II. Lymphoid cells in millipore chambers. *J. exp. Med.*, **115** : 1083-1093, 1962.
- 46) Najarian, J. S. and Feldman, J. D. : Passive transfer of transplantation immunity. III. Inbred guinea pigs. *J. exp. Med.*, **117** : 449-456, 1963.
- 47) Kretschmer, R. R. and Pérez-Tamayo, R. : The role of humoral antibodies in rejection to skin homografts in rabbits. II. Passive transfer of transplantation immunity by sensitized lymph node cells within diffusion chambers. *J. exp. Med.*, **116** : 879-896, 1962.
- 48) Kretschmer, R. R. and Pérez-Tamayo, R. : Fate of lymphoid homografts within diffusion chambers placed in sensitized hosts. *Brit. J. exp. Path.*, **45** : 1-6, 1964.
- 49) Fujii, G. and Nelson, R. A. : The cross-reactivity and transfer of antibody in transplantation immunity. *J. exp. Med.*, **118** : 1037-1058, 1963.
- 50) 藤井源七郎 : 移植免疫における抗体と補体——Dr. Nelson の口演より——. 移植, **3** : 361-366, 1969.
- 51) Boyden, S. V. : Cytophilic antibodies. *In* Amos, B. and Koprowski, H. : Cell-bound antibodies, pp. 7-17, Wistar Inst. Press, Philadelphia, 1963.
- 52) Sorkin, E. : Cytophilic antibody. *In* Wolstenholme, G. E. W. and Knight, J. : The Immunologically competent cell. Ciba Found. Study Group 16, pp. 38-61, G. & A. Churchill, London, 1963.
- 53) Boyden, S. V. : Cytophilic antibody in guinea pigs with delayed-type hypersensitivity. *Immunology*, **7** : 474-483, 1964.
- 54) Granger, G. A. and Kolb, W. P. : Lymphocyte *in vitro* cytotoxicity: Mechanisms of immune and non-immune small lymphocyte mediated target L cell destruction. *J. Immunol.*, **101** : 111-120, 1968.
- 55) Ruddle, N. H. and Waksman, B. H. : Cytotoxic effect of lymphocyte-antigen interaction in delayed hypersensitivity. *Science*, **157** : 1060-1062, 1967.
- 56) Ruddle, N. H. and Waksman, B. H. : Cytotoxic mediated by soluble antigen and lymphocytes in delayed hypersensitivity. 1. Characterization of the phenomenon. *J. exp. Med.*, **128** : 1237-1254, 1968.
- 57) David, J. R. : Suppression of delayed hypersensitivity *in vitro* by inhibition of protein synthesis. *J. exp. Med.*, **122** : 1125-1134, 1965.
- 58) David, J. R. : Macrophage migration. *Fed. Proc.*, **27** : 6-12, 1968.
- 59) Nagai, J. : The reaction of reticulolymphocytic system and humoral IgM-antibody in skin-homograft rejection. *Acta Haem. Jap.*, **31** : 182-198, 1968.